Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. Koch

Über die Wirkung intramuskulärer Injektionen von Nucleotrat, Pankreasextrakt, Perandren und Oestradiol auf das Blutbild normaler Albinomäuse

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe
einer hohen Medizinischen Fakultät der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Günter Wolf
aus Siegen/Westfalen

1939

Buchdruckerei Karl Bölzle, Tübingen, Marktgasse 10

Dekan: Prof. Dr. Stickl
Berichterstatter: Dozent Dr. med. habil. H. E. Bock

Zum Druck genehmigt von der Medizinischen Fakultät
der Universität Tübingen

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Ueber die Wirkung intramuskulärer Injektionen von Nucleorat, Pankreasextrakt, Perandren und Oestradiol auf das Blutbild normaler Albinomäuse.

Durch die von den Amerikanern Reznikoff, Jackson, Parker, Rinehart und Taylor stammende Agranulozytosebehandlung mit Nucleotiden wurden günstige Erfolge erzielt. Der Wirkungsmechanismus ist nicht ganz klar, insbesondere, inwieweit nicht nur die myeloischen, sondern auch die bisher vernachlässigten lymphatischen Elemente zur lebhaften Neubildung angeregt werden, wenn man Kernbildungssubstanzen zuführt.

Da die Agranulozytose hauptsächlich Frauen befällt, liegt der Gedanke nahe, daß irgendein Zusammenhang zwischen den Sexualhormonen und der Agranulozytose besteht. Es wurde daher geprüft, ob die Sexualhormone auf den normalen Blutstatus der Albinomaus einen Einfluß haben. Im Folgenden soll über die Veränderungen des Blutstatus nach Einwirkung von Nucleotrat, Pankreasextrakt, Perandren und Oestradiol berichtet werden.

Untersuchungsverfahren.

Zu den Versuchsreihen wurden Albinomäuse beiderlei Geschlechts benutzt. Die Injektion erfolgte intramuskulär in die Glutäalmuskulatur. Als Einwirkungszeit der injizierten Stoffe wurden bei Nucleotrat und dem Pankreasextrakt 24 Stunden, bei Perandren und Oestradiol 48 Stunden gewählt.

Bei der Blutentnahme, die durch Coupieren des Schwanzes ausgeführt wurde, erhoben sich insofern Schwierigkeiten, als das gewonnene Blut nicht für die Erhebung eines gesamten Blutstatus ausreichte. Aus diesem Grunde mußten zur Ermittlung der einzelnen, in den Tabellen genannten Blutwerten, je 2 bis 3 Albinomäuse verwandt werden. Bei Zählung der Erythrozyten wurde in der Pipette Blut bis zur Marke 0,5 aufgezogen, Hayemsche Lösung nachgezogen bis zur Marke 101 und die Erythrozyten in der Türkschen Zählkammer ausgezählt. Bei der Zählung der Leukozyten wurde ebenfalls bis zur Marke 0,5 in der Pipette aufgezogen, weiter mit Leukozytenzählflüssigkeit bis zur Marke 11 aufgefüllt und die Leukozyten in der Türkschen Zählkammer ausgezählt. Die Reticulozyten wurden auf folgende Weise ausgezählt: auf einem schwach erhitzten Objektträger wurde ein Deckglasausstrich einer 1% alkoholischen Brillantcresylviollettlösung und darüber der Blutausstrich gemacht. Sofort anschließend kam das Präparat 17 bis 20 Minuten in die feuchte Kammer, sodann wurden die Reticulozyten

auf 2000 Erythrozyten ausgezählt. Zur Zählung der Thrombozyten wurde vor dem Nadeleinstich in die Schwanzvene, an den Ort des Einstichs, ein Tropfen 13% Magnesiumsulfat gesetzt. Darauf wurde in die Vene mit einer Nadel eingegangen, sodaß das Blut sich bei Austritt aus der Vene mit Magnesiumsulfat mischte. Von diesem, mit Magnesiumsulfat gemischten Blut wurde ein Ausstrich angefertigt und gefärbt mit May-Grünwald-Lösung 3 Minuten, dann mit Aqua destillata verdünnt, um anschließend Giemsa-Lösung (1 Tropfen auf 1 ccm Aqua dest.) ein bis zwei Stunden auf das Präparat einwirken zu lassen. Die Thrombozyten wurden sodann auf 2000 Erythrozyten ausgezählt. Nach Sahli wurde das Hämoglobin bestimmt. Zur Bestimmung der Gerinnungszeit wurde 1 Tropfen Blut in 1 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung gebracht, der auf einer konstanten Temperatur von 25° Cel. gehalten wurde. Mit Hilfe einer feinen Glasnadel wurde nun durch das Erscheinen des ersten Fibrinfadens die Gerinnungszeit bestimmt. Die Erythrozytenresistenz wurde durch Anwendung einer Verdünnungsreihe von Tyrode-Lösung festgestellt. Für die normale Tyrode-Lösung war 1 als Ausgangswert angesetzt. Die osmotische Resistenz wurde gegen Tyrodeverdünnungen von 0,6; 0,55; 0,5; 0,45 und 0,4 geprüft. Dabei bedeutet 0,6 z. B., daß 0,6 ccm der originalen Tyrode-Lösung auf 1,0 ccm mit Aqua dest. aufgefüllt wurden. Bei einigen weiteren Albinomäusen wurde die Resistenz vergleichsweise gegen Tyrode-Lösung und gegen physiologische Kochsalzlösung geprüft. Der Blutausstrich wurde 3 Minuten mit May-Grünwald-Lösung gefärbt, mit Aqua dest. verdünnt, bzw. abgespült, und sodann wurde Giemsa-Lösung in der Verdünnung 1 : 1 (1 Tropfen Giemsa auf 1 ccm Aqua dest.). Bei 20 Minuten langer Einwirkung benutzt. Es wurden 300 bis 600 Zellen gezählt. Zur Feststellung der einzelnen Prozentsätze wurde jeweils von der Anzahl der ausgezählten Zellen das Mittel genommen. Zur Bestimmung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit mußte eine Mikromethode in Leukozytenzählpipetten benutzt werden. 3,8% Natriumcitrat wurde bis zur Marke 1 aufgezogen, in ein Uhrschälchen gespritzt und mit der gleichen Menge Blut vermischt. In eine andere Pipette wurde dann bis zur Marke 1 diese 1 : 1-Mischung von Blut und Natriumcitrat aufgezogen und nach 1 Stunde (Wert a), bezw. nach 2 Stunden (Wert b) der Senkungswert an der graduierten Skala abgelesen. Der mittlere Senkungswert wurde dann nach folgender Formel errechnet:

$$\frac{a + \frac{b}{2}}{2}.$$

Die Blutungszeit wurde dadurch geprüft, daß das aus dem Schwanz austretende Blut mit Zellstoff solange abgetupft wurde, bis die Blutung

stillstand. Das Verhältnis Blutkörperchen zur Blutflüssigkeit wurde mit dem Hämatocriten nach van Allen festgestellt. Blut wurde bis zur Marke 10 aufgezogen, etwa bis zur Hälfte des darüber befindlichen Kolbens mit 3,8% Natriumcitrat-Lösung verdünnt, verschlossen und mit schärfster Umdrehungszahl $^1/_2$ Stunde zentrifugiert. Die mittleren Erythrozyten-Durchmesser wurden mit Hilfe des Tierbluterythrozytometers nach Bock (Hersteller A. Krüß, Hamburg 39, Gertigstr. 31) bestimmt. Zur Herstellung der Organtupfpräparate von Knochenmark, Leber und Milz wurde eine normale Albinomaus mit Aether zu Tode narkotisiert, seziert, Femur, Wirbelmark, Leber und Milz durchschnitten und die Zellen, welche sich auf der Schnittfläche befanden, durch Tupfen auf einen Objektträger gebracht; sodann analog dem Blutausstrich gefärbt und ausgezählt.

Normalbefunde.

Nach Klieneberger weicht das Blut der weißen Maus — ganz abgesehen von der schwankenden Breite der Norm — nicht unerheblich vom menschlichen Blut ab. Der durchschnittliche Hämoglobingehalt beträgt 90—100%, nach Leitz 96—104%. Die Erythrozytenzahlen sind wesentlich höher (9,7 u. 9,4 Mill. im Mittel neuer Untersuchungen) und es kreisen Jugendformen von roten Blutkörperchen (Polychromasie und Erythroblasten). Die Thrombozyten betragen 157 000—412 000; im Mittel 284 810. Der Erythrozytendurchmesser beträgt nach Klieneberger 5,7 µ während bei meinen Mäusen höhere Werte (7,18 µ) gemessen wurden. Die Leukozytenzahl im cmm (7400) entspricht zwar der des Menschen, das Blutbild ist indessen lymphozytär, es fehlen neutrophil granulierte, polynucleäre Leukozyten. Die Polynucleären sind entweder ungranuliert oder azidophil granuliert. Basophile Leukozyten, die sicher im Knochenmark gebildet werden, trifft man im strömenden Blut kaum an. Basophile Leukozyten wurden 1% bei 2 von 17 Tieren angetroffen (Schwanzblut und arterielles Blut). Die Polynucleären sind durchweg von großer Kernreife. Jugendformen von Leukozyten Myelozyten) kreisen, wie es scheint, gelegentlich in normalem Blut. Als blutbildende Organe funktionieren neben dem Knochenmark als Hauptbildungsstätte die Milz und vielleicht die Leber (sofern man die Anhäufung weißer Elemente für die Beurteilung der Hämatopoese zugrunde legt). Weiterhin gibt der Verfasser an, daß bei Untersuchung des Schwanzblutes und mittels Anwendung der Quetschmethode qualitative Veränderungen im Hämoglobingehalt und in der Erythrozytenmenge erkannt werden. Ebenso seien gewisse qualitative Abweichungen im Leukozytenblutbild zu berücksichtigen, wie eine Zu- oder Abnahme der Eosinophilen und ein starker Anstieg der

Lymphozyten. — Kamenoff stellte im Mittel 9 500 000 rote Blutkörperchen im cmm bei der weißen Maus fest. —

Es folgen nun tabellarisch zusammengestellt die von mir gefundenen Blutbildwerte der normalen Albinomäuse:

Normal

Maus Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Erythrozyt.	8,7			7,5			6,9			8,9			5,8		
Leukozyt.	7520			5750			5600			7500			8900		
Reticulo- relat.	74‰			73‰			55‰			61‰			62‰		
zyten absol.	643800			547500			379500			542900			359600		
Trombozyt.	652500			675000			558900			605200			527800		
Hämoglob.	77%			80%			68%			87%			69%		
0,6			6,3%			33,8%			73,4%			56,5%			52,7%
Erythro- 0,55															16,3%
Resistenz 0,5															5,9%
0,45			0%			0%			0%			1,4%			4,5%
0,4															1,2%
Relat. Lympho.	79,5%			58%			75,5%			69%			58%		
Monozyt.	7%			4%			6%			4,5%			11%		
Leukozyt. Stabk.	8%			10,5%			7%			13%			17%		
Werte Segment.	11,5%			15,5%			10,5%			13,5%			14%		
Eosinoph.	0%			0%			0%			0%			0%		
Absolut. Lymphat.	5978						4328			5175			5162		
Leukozyt. Monocyt.	526						336			338			979		
Werte Myeloisch	1466						980			1988			1859		
Gerinnung		2 Mi			3 Mi			4 Mi			2 Mi			3 Mi	
Mikrosenkg.			0,07			0,13			0,07			0,07			0,08
Blut.-Zt.		80 Mi			50 Mi			110 Mi							
Hämatocrit-Vol.%								37%				32%			
Erythro-Gr.													7,5μ		

Normal

Maus Nr.		16	17	18	19	20	21	66	67	68	69	70	71	Mittel
Erythrozyten		5,2			8,9			7,7			7,2			7,4
Leukozyten		8600			8700			7353			7240			7463
Reticulo-	relativ	54‰			60‰				62‰			56‰		62‰
zyten	absolut	280800			534000									469728
Thrombozyten		582400			1041300				97‰			95‰		663243
Hämoglobin		85%			78%			74%			84%			78%
Erythr. Resistenz	0,6			51,9%			53,5%			Nacl-Resistenz			Nacl-Resistenz-Organtupfpräparate	43,4%
	0,55			15,3%			16,9%							16,7%
	0,5			5,8%			6,5%							6,7%
	0,45			3,8%			3,9%				Tyrode-Resistenz			4,1%
	0,4			1,0%			2,1%							0,8%
Relat. Leukozyt.-Werte	Lymphozyt.	79%			76%									70,9%
	Monozyt.	7%			3%									6,1%
	Stabkern.	7%			12%									10,6%
	Segment.	6%			9%									11,4%
	Eosinoph.	1%			0%									0%
Absolut. Leukozyt.-Werte	Lymphat.	6794			6612									5341
	Monocyt.	602			261									467
	Myeloisch.	1204			1827									1554
Gerinnung			2 Min.			1 Min.			2,9Min					2,5 Min.
Mikrosenkung				0,1			0,11		0,11					0,09
Blutungszeit						71 Min.								78 Min.
Hämatocrit Vol.%				40%			39%							39%
Erythro-Gr.		7,2μ			7,3μ									7,18μ

7

Erythrozytenresistenz gegen NaCl und Tyrodelösung

NaCl:

Maus Nr.	68	71	72	74	76	Mittel
0,85 %	9,29 M. 100%		7,8 M. 100%	7,5 M. 100%	8,4 M. 100%	100%
0,7 %	8,89 M. 95%		6,2 M. 79%	6,1 M. 81%	7,3 M. 87%	88,7%
0,6 %	7,2 M. 77%		5,7 M. 73%	5,5 M. 74%	6,4 M. 76%	75,7%
0,5 %	6,61 M. 71%		5,6 M. 71%	5,2 M. 69%	5,9 M. 70%	70,5%
0,475%		3,74 M. 40%	3,9 M. 50%	3,2 M. 43%	4,2 M. 50%	47,6%
0,45 %		2,0 M. 21%	2,6 M. 33%	2,5 M. 33%	2,7 M. 32%	32,6%
0,425%		1,4 M. 15%	1,3 M. 18%	1,0 M. 13%	1,3 M. 15%	15,3%
0,4 %		0,47 M. 5%	0,2 M. 2,5%	0,1 M. 1,3%	0,3 M. 3,5%	2,5%
0,3 %		0,02 M. 0,2%	0,08 M. 1%	0,05 M. 0,7%	0,1 M. 1,2%	1%

Tyrode:

Maus Nr.	73	75	77	Mittel
1,0 %	8,8 M. 100%	8,6 M. 100%	7,9 M. 100%	100%
0,62%	7,1 M. 81%	6,4 M. 74%	5,9 M. 75%	76,6%
0,6 %	5,9 M. 67%	5,4 M. 63%	4,8 M. 61%	(53,6)% 63,7%
0,58%	5,2 M. 59%	5,1 M. 59%	3,1 M. 39%	52,3%
0,55%	1,8 M. 20%	2,3 M. 27%	1,2 M. 15%	(18,7)% 20,7%

Zur Feststellung des Knochenmarkbildes wurden die Femurkopfpunktate zweier normaler Mäuse untersucht. Sie ergaben Folgendes: Es finden sich überwiegend Granulozyten, von einer Zusammensetzung, die der mensch-

lichen etwa entspricht. Auffallend war der Reichtum an Eosinophilen. Im Einzelnen fanden wir, auf 100 weiße Zellen bezogen, folgende Prozentsätze:

Myeloblasten	2 %	und	0 %
Promyelozyten	3 %	„	3 %
Jugendliche	15,5 %	„	15,5 %
Stabkernige	49,5 %	„	38 %
Segmentkernige	17 %	„	22 %
Lymphozyten	6 %	„	8 %
Reticuloelemente	2,5 %	„	1,5 %

Die myeloische Linksverschiebungszahl betrug 226. Auf 100 weiße Zellen entfielen 9 rote Vorstufen. Ihre Zusammensetzung war:

Proerythroblasten jung	8 %
Erythroblasten gewöhnlich	43 %
Normoblasten jung	4 %
Normoblasten gewöhnlich	41 %
Normoblasten alt	4 %

Die rote Linksverschiebungszahl betrug 272.

Knochenmarkriesenzellen waren weniger als $^1/_2$ % vorhanden. Die gefundenen waren meist rundkernig und zeigten Felderung im Protoplasma. Die Erythropoese war wesentlich mehr nach links verschoben als beim normalen menschlichen Mark. Zu sehen, ob die Markteile an verschiedenen Orten gleich waren, wurde auch noch ein Wirbeltupfpräparat hergestellt. Dabei konnten wir eine stärkere Erythropoese feststellen. Die dem oben aufgestellten Femurbild entsprechenden Zahlen des Wirbelmarks sind folgende:

Myeloblasten	5,5 %
Promyelozyten	6 %
Myelozyten	5,5 %
Jugendliche	9 %
Stabkernige	40 %

Segmentkernige	26,5%
Lymphozyten	4%
Monozyten	2%

Die myeloische Linksverschiebungszahl betrug 236. Auf 100 weiße Markzellen entfielen 25 weiße Vorstufen. Die Zahlen der Erythropoese waren:

Proerythroblasten jung	8%
Erythroblasten gewöhnlich	41%
Normoblasten jung	4%
Normoblasten gewöhnlich	32%
Normoblasten alt	15%

Die rote Linksverschiebungszahl betrug 256.

Es fiel im Wirbelmark auf, daß viele Kerne sich ringförmig im Zelleib vorfanden, selbst unter den Myeloblasten, deren Kerngestalt nie ganz rund, mitunter sogar bandförmig war.

Im Lebertupfpräparat der normalen weißen Maus waren die Kerne schollig, das Parenchym etwas zerfetzt und vakuolig. Aus dem Tupfpräparat ergab sich kein Beweis für Blutzellbildung, trotz einiger(myelo?)-blastenartiger Zellen.

In dem Milztupfpräparat war eine vorwiegende Lymphopoese ersichtlich. Die Normoblasten waren wie die Eosinophilen mäßig zahlreich. Es fanden sich außerdem einige Haufen von Riesenzellen.

Zusammenfassend müssen wir, wie die Tabellen gezeigt haben, mit folgenden Normalwerten rechnen: (die in Klammern gesetzten Zahlen bedeuten die Streuung)

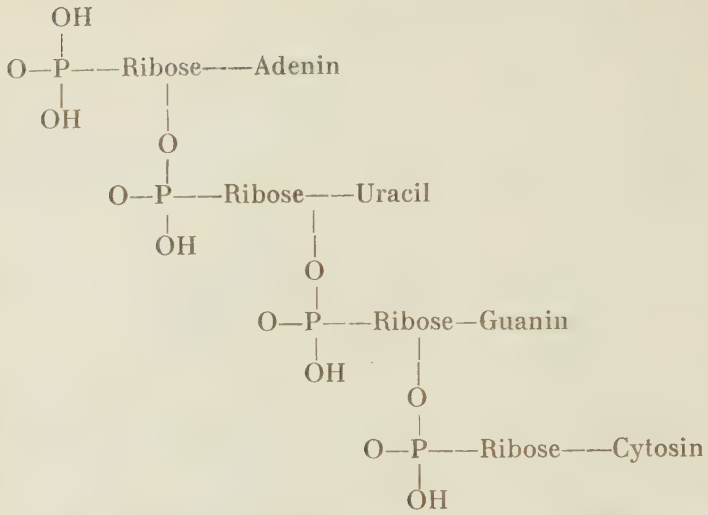
Erythrozyten	7,4 Mill.	(5,2—8,9)
Hämoglobin	78%	(68—87)
Färbeindex	0,5	(0,4—0,8)
Reticulozyten rel.	62‰	(54—74)
Reticulozyten abs.	469 728	(280 800—643 800)
Erythrozytendurchmesser	7,18 µ	(7,05—7,3)
Hämatocrit	39%	(32—40)

Erythrozytenresistenz gegen Tyrode:

0,6 Tyrode-Lösung	43,4%	(6,3—73,4)
0,55 „ „	16,7%	(15,3—16,9)
0,5 „ „	6,7%	(5,8—6,7)
0,45 „ „	4,1%	(3,8—4,5)
0,4 „ „	0,8%	(0—2,1)
Gesamtleukozyten	7 463	(5 600—8 900)
davon myeloisch	1 554	(980—1 988)
„ lymphatisch	5 341	(4 328—6 794)
„ monocytär	467	(261—979)
Differentialblutbild:		
Lymphozyten	70,9%	(58%—79,5%)
Monozyten	6,1%	(3—11%)
Stabkernige	10,6%	(7—17%)
Segmentkernige	11,4%	(6—15,5%)
Eosinophile	0%	(0—1%)
Thrombozyten	663 243	(527 800—1 041 300)
Blutungszeit	78 Min.	(50—110)
Gerinnungszeit	2,5 Min.	(1—4)
Mikrosenkung	0,09	(0,07—1,13)

Nucleotrat — Pankreasextrakt.

Von den verschiedenen Mononucleotiden sind bisher in ihrer Struktur genau bekannt nur die bei der Hydrolyse der Hefenucleinsäure entstehenden: Adenylsäure, Guanylsäure, Cytidylsäure und Uridylsäure. Sie entstehen aus den Nucleosiden durch Eintritt von Phosphorsäure. Bisher konnten bei der Spaltung der Polynucleotide nicht alle Mononucleötide erhalten werden, sondern zum Teil nur die Nucleoside, weil bei der Zerlegung des Polynucleotidmoleküls auch Phosphorsäurereste mit abgespalten werden. Die feinere Struktur, d. h. die feinere Art der Verknüpfung der Mononucleotide untereinander und ihre Reihenfolge im Polynucleötidmolekül ist noch nicht ganz geklärt. Nach Levene ist immer die Pentose des einen mit der Phosphorsäure des anderen Mononucleötids vereinigt, sodaß sich etwa das folgende Formelbild ergeben würde, indem allerdings die Reihenfolge der Mononucleotide noch willkürlich ist:



Die Vereinigung des einen Mononucleotids mit dem basischen Rest des zweiter erfolgt durch P-N-Bindung. Die lebenswichtige Bedeutung der Polynucleotide ist sichergestellt, da alle morphologisch erkennbaren Veränderungen am Kern, wie Kernteilung, Verhalten der Chromosomen usw. sich vor allem am Chromatin, also im wesentlichen an den Nucleoproteiden abspielen. Das Nucleotrat, welches als Injektionsstoff benutzt wurde, ist das Natriumsalz von Pentosenucleotid.

In der Literatur finden sich keine Angaben über die Veränderungen des Mäuseblutbildes nach Injektionen von Nucleotrat und Pankreasextrakt. Bei dem Pankreasextrakt handelt es sich um einen Extrakt, der von den Nordmark-Werken zur Verfügung gestellt wurde. Wahrscheinlich ist ein reicher Tyrosingehalt die hauptsächliche Wirkungskomponente.

Das Blutbild war 24 Stunden nach intramuskulärer Injektion von 0,2 ccm Nucleotrat und 0,2 ccm Pankreasextrakt folgendermaßen verändert: (siehe Tabelle).

Nucleotrat: 0,2 ccm/24 Std. pro Maus.

Maus Nr.		22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	Mittel	Norm.-wert
Erythrozyten		6,8 M.			7,5 M.		6,7 M.			6,4 M.		7,2 M.			6,9 M.	7,4 M.
Leukozyten		10900			10200		14500			20400		15100			14220	7463
Reticulo-zyten	relativ	102‰			96‰		106‰			88‰		95‰			97,4‰	62‰
	absolut	693600			720000		710200			563200		684000			674000	469728
Thrombozyten		788800			885000		824100			857600		900000			851100	663243
Hämoglobin		80%				74%		72%			77%		82%		77%	78%
Erythr. Resistenz	0,6			11,8%		21,3%			3,6%	10,9%			9,0%		11,3%	43,4%
	0,55			2,9%		12%			1,5%	4,7%			3,9%		5,2%	16,7%
	0,5			1,4%		1,3%			2,2%	1,4%			1,4%		1,5%	6,7%
	0,45			0,7%		0,8%			0,6%	0,8%			0,6%		0,7%	4,1%
	0,4			0%		0,3%			0,4%	0,6%			0,4%		0,3%	0,8%
Relat. Leukozyt. Werte	Lymphozyt.	57%			63%		56%			63%		65%			60,8%	70,9%
	Monozyt.	4%			4,5%		4%			2,5%		5,5%			4,1%	6,1%
	Stabkern.	10,5%			6,5%		5%			8,5%		5%			7,1%	10,6%
	Segment.	25,5%			21,5%		29%			20,5%		20,5%			23,4%	11,4%
	Eosinoph.	3%			4%		6%			4%		2%			3,8%	0%
Absolut. Leukozyt. Werte	Lymphat.	6213			6426		8120			12852		9815			8685	5341
	Monocyt.	436			459		580			510		831			563	467
	Myeloisch.	4230			3264		5800			6732		4153			4838	1554
Gerinnung				1,3 M.		1,3 M.		2,8 M.			1,5 M.			1,9 M.	1,8 M.	2,5 M.
Mikrosenkung			0,07			0,07		0,09			0,07			0,05	0,07	0,09
Blutungszeit				70 M.							65 M.				67,5 M.	78 M.
Hämatocrit Vol.%			32%			38%			35%		35%		36%		35%	39%
Erythro-Gr.		6,7µ				7,0µ Anisozytose	7,2 µ Anisozytose			7,0 µ		6,5 µ			6,8 µ	7,18

Pankreasextrakt: 0,2 ccm/24 Std. pro Maus.

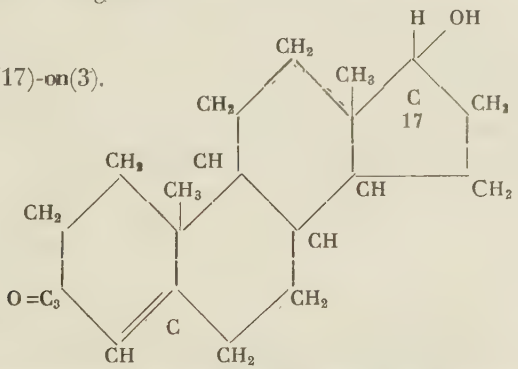
Maus Nr.		59	60	61	62	63	64	65	Mittel	Normal-Werte
Erythrozyten		8,3 M.			9,6 M.		8,5 M.		8,8 M.	7,4 M.
Leukozyten		12600			9200		9300		10366	7463
Reticulozyten	relativ	50‰			48‰		52‰		50‰	62‰
	absolut	415000			460800		442000		572600	469728
Thrombozyten		514600			595200		501500		537100	663243
Hämoglobin				64%	72%			73%	69,7%	78%
Erythrozyten-Resistenz	0,6		30,9%			26%		27,1%	28%	43,4%
	0,55		15,7%			9,4%		9,4%	11,5%	16,7%
	0,5		2,4%			3,1%		2,4%	2,6%	6,7%
	0,45		0,5%			0,4%		0,3%	0,4%	4,1%
	0,4		0,1%			0,2%		0,1%	0,1%	0,8%
Relat. Leukozyt. Werte	Lymphozyt.	61,5%			64,3%		63%		62,9%	70,9%
	Monozyt.	3%			2,6%		3,5%		3,3%	6,1%
	Stabk.	10%			10,3%		10,5%		10,3%	10,6%
	Segment.	23%			21,3%		20,5%		21,6%	11,4%
	Eosinophile	2,5%			1,3%		3%		2,3%	0%
Absolute Leukozyt. Werte	Lymphozyt.	7749			5917		5859		6508	5341
	Monozyten	378			239		326		314	467
	Myeloisch	4473			3019		3163		3552	1554
Gerinnung					1,4 M.			1,7 M.	1,5 M.	2,5 M.
Mikrosenkung				1,5 M.		0,08		0,09	0,09	0,09
Blut.-Zt.				0,1					110 M.	78 M.
Hämatocrit.-Vol.%				110 M.		49%		42%	43%	39%
Erythro-Gr.		6,8 µ	18%		6,9 µ				6,7 µ	7,18 µ

Perandren.

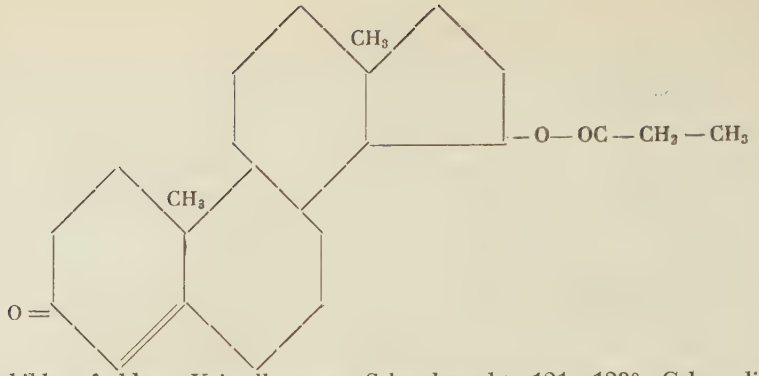
Aus Hodenextrakten waren 1931 im Laboratorium von Laqueur hochwirksame Produkte erhalten worden, welche 1 Kapauneneinheit in 8 γ aufwiesen. Im gleichen Jahre erhielten Butenandt und Tscherning aus 25 000 Litern Männerharn 15 mg eines kristallisierten Körpers, das spätere Androsteron. Prüft man rohe Extrakte aus Männerharn am Kapaunenkamm und an den Vesikulardrüsen, so findet man ein bestimmtes Verhältnis beider Wirkungen zueinander. Bei Hodenextrakten ist dieses Verhältnis zu Gunsten der Drüsenwirkungen verschoben. Androsteron und Trans-Dehydro-Androsteron zeigten eine relativ schwächere Vesikulardrüsenwirkung als die rohen Zubereitungen. Es fiel ferner auf, daß sich in Extrakten die Drüsenwirkung rascher zerstören läßt als die Kammwirkung. Diese Tatsachen wiesen auf die Existenz eines Hormons, besonders im Hoden hin, daß auf die Vesikulardrüsen stärker als die bereits bekannten Stoffe einwirkt. Nachdem sich inzwischen gezeigt hatte, daß die Kapauneneinheit des reinen Androsterons nicht zu einigen γ enthalten ist, sondern in etwa 100—150 γ (Ruzicka), nahm Laqueur die vor Jahren unterbrochene Arbeit wieder auf und isolierte 1935 mit Dingemanse und Freud aus 100 kg Stierhoden 10 mg eines neuen kristallisierten Hormons, das Testosteron genannt wurde. Die Kapauneneinheit enthielt das Testosteron in etwa 8 γ, an den Vesikulardrüsen wirkte es stärker als Androsteron. Die Konstitution des Testosterons wurde kurz nach seiner Entdeckung von Butenandt und Ruzicka durch Darstellung aus Trans-Dehydro-Androsteron auf gleichem Wege bewiesen.

Die Darstellung des Testosterons geht von den Sterinen aus. Seine Konstitutionsformel ist folgende:

Androsten (4)-ol(17)-on(3).



Der den Albinomäusen injizierte Stoff, das Perandren „Ciba", ist ein Propionsäureester des Testosterons mit folgender Konstitutionsformel,

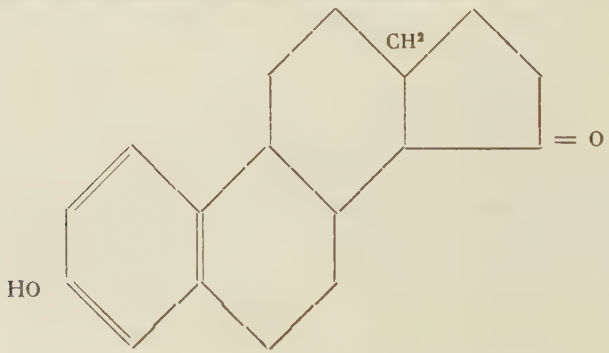


und bildet farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 121—123° Cels., die in Wasser unlöslich, dagegen in Oel und Oellösungsmitteln löslich sind.

Folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse nach 48-stündiger Einwirkung von 0,15 ccm intramuskulär verabfolgtem Perandren bei der Albinomaus: (siehe Tabelle).

Oestradiol.

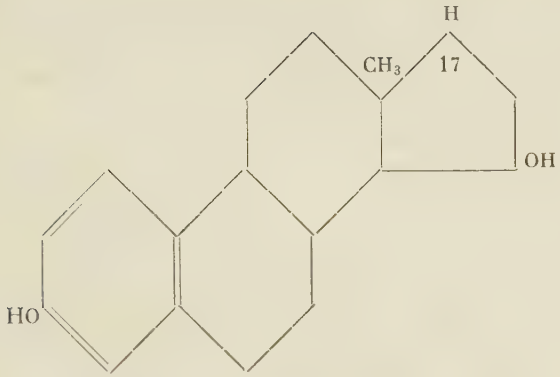
Versuche zur Darstellung eines wirksamen Hormons aus Placenta von Herrmann, Fraenkel (1915), Faust, führten zu wirksamen Produkten, die nur aus Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff bestanden. Diese Stoffe stellten noch nicht das reine Hormon dar. Allen und Doysi (1923) versuchten dann die Isolierung aus Follikelsaft von Schweinen, ebenso Laqueur (1926). Loewe fand 1925 im Blut und Harn von Frauen Follikelhormon, bzw. dessen Wirkung, und Aschheim und Zondeck stellten 1927 fest, auch Smith, daß im Blut und Harn von schwangeren Frauen sehr viel mehr Hormon als normalerweise vorhanden ist. 1930 entdeckte Zondeck im Harn trächtiger Stuten ein noch viel reicheres Ausgangsmaterial, ebenso später im Hengstharn. Aus Schwangerenharn gelang es 1929 Doisy in USA, fast gleichzeitig und unabhängig davon Butenandt in Göttingen, ferner Laqueur in Amsterdam, das kristallisierte Follikelhormon (später Oestron genannt) rein darzustellen. Seine Konstitutionsformel ist:



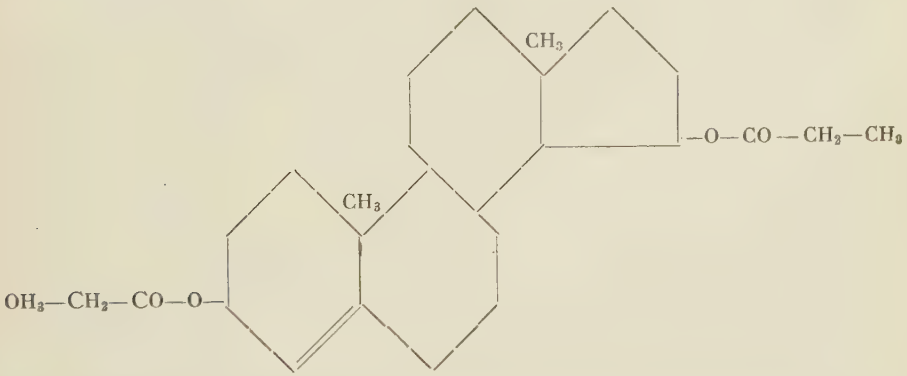
Perandren: 0,15 ccm/48 Std. pro Maus.

Maus Nr.		35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	Mittel	Norm.-wert
Erythrozyten		8,0 M.		6,9 M.			7,6 M.		7,3 M.			7,4 M.		7,4 M.	7,4 M.
Leukozyten		11400		11900			12900		13900			12600		12540	7463
Reticulo-zyten	relativ	115‰			129‰		121‰		136‰			122‰		125,6‰	62‰
	absolut	920000					919600		992800			902800		933800	469728
Thrombozyten		1056000			140‰		950000		1014700			791800		953125	663243
Hämoglobin		74%			80%			79%		72%			71%	75,2%	78%
Erythr. Resistenz	0,6		8,8%			13%	10,5%				11%	8,1%		13,3%	43,4%
	0,55		7,5%			10,9%	6,5%				6,8%	5,4%		7,4%	16,7%
	0,5		1,3%			1,4%	1,1%				2,7%	0,8%		1,5%	6,7%
	0,45		0,1%			0,3%	0,9%				1,4%	0,5%		0,6%	4,1%
	0,4		0%			0,1%	0,1%				1,1%	0,1%		0,3%	0,8%
Relat. Leukozyt. Werte	Lymphozyt.	84%			89%		75,5%		88,5%			92%		85,8%	70,9%
	Monozyt.	6,5%			0%		3%		3%			1%		2,7%	6,1%
	Stabkern.	4,5%			3%		3,5%		2%			2%		3%	10,6%
	Segment.	5%			8%		17,5%		5,5%			5%		8,2%	11,4%
	Eosinoph.	0%			0%		0,5%		0%			0%		0,1%	0%
Absolut. Leukozyt. Werte	Lymphozyt.	9576					9740		12302			11592		10802	5341
	Monocyt.	741					387		417			126		418	467
	Myeloisch.	1083					2755		1043			882		1441	1554
Gerinnung			1,4M.			1,1 M.		1,6 M.		1,8M.			1,3 M.	1,4 M.	2,5 M.
Mikrosenkung						0,05		0,04			0,01		0,05	0,05	0,09
Blutungszeit		0,09						55 M.					60 M.	57,5M.	78 M.
Hämatocrit Vol.%			38%		39%		37%				36%	38%		38%	39%
Erythro-Gr.		6,8 µ			6,8 µ		6,85µ							6,8 µ	7,18 µ

Doisy isolierte 1935 aus Schweineovarien Dihydrofollikelhormón (-Oestradiol):



Oestradiol wirkt, je nach den Bedingungen der Zufuhr, 1—6mal stärker als Oestron. Ebenfalls protrahiert soll das Benzoylöstradiol wirken, wie Ester der aliphatischen Reihe bezüglich Intensität und Dauer der Wirkung. Das Oestradiol-Dipropionat-„Ciba" als Oestradiolderivat C, welches den Albinomäusen injiziert wurde, hat folgende Konstitutionsformel:



Es bildet farblose glänzende Kristallblättchen vom Schmelzpunkt 104,5°. In fetten Oelen ist es gut löslich.

0,15 ccm Oestradiol wurde, intramuskulär injiziert, 48 Stunden auf die Albinomaus einwirken lassen. Die Ergebnisse zeigt folgende Tabelle:

Oestradiol: 0,15 ccm/48 Std. pro Maus.

Maus Nr.		47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	Mittel	Norm. Werte
Erythrozyt.		8,8 M.		8,9M.			7,4 M.		6,9 M.		7,5 M.			7,9 M.	7,4 M.
Leukozyt.		10300		10700			12100		10100		11500			10940	7463
Reticulo-zyten	relat.	50‰			44‰		79‰		68‰		66‰			61,4‰	62‰
	absol.	440000					584600		469200		495000			497200	469728
Trombozyt.		924000			120‰		791800		676200		600000			748000	663243
Hämoglob.			75%			72%	69%			76%		81%		74,6%	78%
Erythro-zyten-Resistenz	0,6		23,9%			13,6%		12,2%	27,5%				17,3%	18,9%	43,4%
	0,55		20,5%			7,9%		8,1%	14,5%				9,3%	12,1%	16,7%
	0,5		3,4%			3,4%		2,7%	5,8%				2,7%	3,6%	6,7%
	0,45		0,9%			1,1%		1,4%	1,3%				1,2%	1,2%	4,1%
	0,4		0,7%			0,4%		0,1%	1%				0,4%	0,5%	0,8%
Relat. Leukozyt. Werte	Lympho.	59%			87,5%		64%		75%		64,6%			74%	70,9%
	Monozyt.	3,5%			2%		2,5%		2,6%		1,3%			2,4%	6,1%
	Stabk.	6,5%			3%		5,5%		5,6%		7,6%			5,6%	10,6%
	Segment.	30%			7,5%		28%		16,6%		26,3%			21,7%	11,4%
	Eosinoph.	0%			0%		0%		0%		0%			0%	0%
Absolut. Leukozyt. Werte	Lymphat.	6077					7744		7575		7429			7206	5341
	Monocyt.	361					303		263		150			269	467
	Myeloisch	3760					4054		2243		3899			3489	1554
Gerinnung			2,7 M.			3,1 M.		2,4 M.		2,5 M.		3,2M.		2,8 M.	2,5 M.
Mikrosenkg.			0,03			0,07		0,09		0,08		0,13		0,08	0,09
Blut.-Zt.						60 M.				55 M.				57,5 M.	78 M.
Hämatocrit-Vol.%			44%			48%		42%		44%			49%	45%	39%
Erythro-Gr.		6,8 µ			7,05 µ		6,95 µ		6,6 µ		6,8 µ			6,84 µ	7,18 µ

Besprechung der Ergebnisse.

Nucleotrat.

Nach Einwirkung von Nucleotrat ist eine deutliche Leukozytose von 14 220, d. h. ein Zuwachs von 6 757 weißen Blutkörperchen im Mittel zu verzeichnen. Im weißen Blutbild sind die myeloischen Elemente deutlich erhöht (Anstieg von 1 554 auf 4 838). Die Eosinophilen erfahren, in mittleren absoluten Zahlen errechnet, einen Zuwachs von 572 Zellen pro cmm. Ebenso vermehren sich die Reticulozyten (Anstieg von 469 728 auf 674 000), sowie die Thrombozyten (Anstieg von 663 243 auf 851 100 in absoluten Zahlen). Die Gerinnungszeit wird nach Nucleotrat um 0,7 Min. verkürzt. Die Erythrozytenresistenz gegen Tyrodelösung nimmt ab. Die Erythrozytengröße vermindert sich etwas, vielleicht noch innerhalb der methodischen Fehlergrenzen. Der Hämatocritwert erfährt eine Abnahme von 39 auf 35 Vol.%.

Pankreasextrakt.

Einwirkung von Pankreasextrakt verursacht am Blutbild der Albinomaus eine Erythrozytose (Anstieg von 7,4 Mill. auf 8,8 Mill.) und eine Leukozytose (Anstieg von 7 463 auf 10 366). Die Erythrozytenresistenz ist vermindert. Im weißen Blutbild ist eine Vermehrung der Polymorphkernigen zu verzeichnen (Anstieg von 1554 auf 3552). Die Gerinnungszeit ist um 1 Min. verkürzt und die Erythrozytengröße vermindert sich um 0,48 µ der Hämatocritwert ist um 4 Vol.% heraufgesetzt.

Perandren.

Nach Einwirkung von Perandren erhöhen sich die Leukozytenwerte (Anstieg von 7463 auf 12 540). Der Wert der Polymorphkernigen fällt von 1554 auf 1441. Nach Versuchen von Morimoto trat bei kastrierten männlichen Kaninchen, nach 2 Wochen das Maximum erreichend, eine Veränderung des Leukozytenbildes auf, die durch Rechtsverschiebung nach Arneth und Verminderung der Pseudoeosinophilen charakterisiert war. — Bei meinen Versuchsergebnissen steigen die Thrombozytenzahlen von 663 243 auf 953 125 an. Murao stellte fest, daß nach Exstirpation von Hoden bei Kaninchen die Blutplättchenzahl meistens abnimmt und nach 18 Tage langer Fütterung mit Hodensubstanz eine Vermehrung der

Blutplättchen eintritt. — Die Reticulozyten steigen in meinen Ergebnissen von 469 728 auf 933 800 Zellen an. Im weißen Blutbild entsteht eine deutliche Lymphozytose (Anstieg von 5 341 auf 10 802 Zellen). Die Erythrozytenresistenz gegen Tyrode-Lösung ist herabgesetzt; Favilli fand mit Hodenextrakt eine Wirkung auf Erythrozyten im Sinne einer Hämolyse. — Die Gerinnungszeit ist um 1,1 Min., die Erythrozytengröße um 0.38 μ in meinen Ergebnissen herabgesetzt. — Carta hatte gefunden, daß Hodenextrakt keine Wirkung auf das Blutbild des männlichen Kaninchens hat.

Oestradiol.

Durch Oestradiol wird der Hämoglobingehalt von 78% auf 74,6% herabgesetzt. Es entsteht eine Leukozytose (Anstieg von 7 463 auf 10 940). Im weißen Blutbild ist eine starke Vermehrung der Segmentkernigen (Anstieg von 11,4% auf 21,7%), eine Verminderung der Stabkernigen (Abnahme von 10,6% auf 5,6%) und eine geringe Lymphozytose (Anstieg von 70,9% auf 74%) zu verzeichnen. Die Monozyten nehmen an Zahl ebenfalls ein wenig ab (von 6,1% auf 2,4%). Die Thrombozyten nehmen nicht ab. Das steht im Gegensatz zu den Befunden Holtz, Arnold und Marx bei Hunden. Durch Oestradiol erfuhr die Zahl der Thrombozyten in meinen Ergebnissen einen Anstieg von 663 243 auf 748 000 Zellen. Arnold, Holtz und Marx fanden, daß nach Injektionen bei Hunden, die mit Progynon-B-oleosum behandelt wurden, die Leukozytenzahl anstieg. Die mikroskopische Betrachtung der gefärbten Leukozyten zeigte, daß die meisten Zellen als völlig ausgereift angesehen werden mußten. Die Zahl der Blutplättchen sank stark ab. Wiederholt konnte ein vollständiges Verschwinden der Blutplättchen aus dem strömenden Blut festgestellt werden. Gleichzeitig damit traten die ersten punktförmigen und unregelmäßig über große Flächen verteilte Blutungen an Haut und Schleimhäuten auf. Bei einigen Tieren fand sich eine geringe Abnahme der Erythrozytenzahlen und des Blutfarbstoffgehaltes. Wurde die Behandlung rechtzeitig abgebrochen oder wurden die Hormonmengen über längere Zeit verteilt gegeben, so konnten sich die Tiere wieder vollständig erholen. Es kam dann meist in der Erholung zu den Zeichen einer lebhaften Neubildung der roten Blutkörperchen mit dem Auftreten zahlreicher junger Formen (Reticulozyten). Es wurden dabei Anstiege der Reticulozyten bis zu 100 000 in 1 cmm Blut gegen normalerweise 30 000 bis 50 000 in 1 cmm gefunden. — v. Balo und Purjesz fanden, daß nach intramuskulärer Injektion bei Hunden und Hündinnen von

täglich 50 000 E. (20 Tage lang), die Hunde und Hündinnen nach mehreren größeren Dosen von „Glandubolin Richter" (ölige Lösung) mit einer Abnahme der Erythrozyten-, Thrombozytenzahl, mit einer Zunahme und Linksverschiebung der Leukozyten zugrunde gingen. — Bei meinen Versuchen verzögerte sich die Gerinnungszeit durch Oestradiol um 0,3 Min. Druckrey konnte durch Ovarialhormon bei weiblichen Ratten die Blutungs- und Gerinnungszeit verlängern. Nach Szekessy treten bei subcutaner Verabreichung von größeren Mengen Follikelhormon im Blutbild von Meerschweinchen Veränderungen auf, die einen dreiphasischen Verlauf zeigen: anfangs kann ein Ansteigen der Werte der Erythrozytenzahl, des Hämoglobins und der Neutrophilen Leukozyten beobachtet werden. In der zweiten Phase kehren sich die Verhältnisse vollkommen um, um schließlich in der letzten Versuchswoche (3. Phase) wieder die Ausgangswerte zu erreichen. In der zweiten Phase treten auch Normoblasten auf. Nicolle stellte in der Brunst, vor der Niederkunft und während der Stillperiode eine Senkung des Reticulozytenspiegels beim erwachsenen Kaninchen und eine Reticulozytose durch Prolan fest. —

Nach Kastration weiblicher Kaninchen beobachtete Morimoto eine Rechtsverschiebung der Leukozytenkerne. Verfütterung von Ovarialzwischengeweben machte Linksverschiebung, Corpus luteum-Gewebe machte Rechtsverschiebung. — Minakuchi fand nach Exstirpation des Ovars bei erwachsenen Kaninchen, daß die Hämoglobinresistenz abnimmt, und Murao beobachtete nach Injektionen des interstitiellen Gewebes der Ovarien beim Kaninchen nach 15—16 Tagen meistens ein Ansteigen der Thrombozytenzahlen. Nach Injektionen von Corpus-luteum-Extrakten fand er eine ausgesprochene Abnahme. — Bei meinen Versuchen stieg weiter der Hämatocritwert von 39 auf 45 Vol.% an, die Erythrozytengröße nahm um 0,34 μ ab und die Erythrozytenresistenz wurde herabgesetzt.

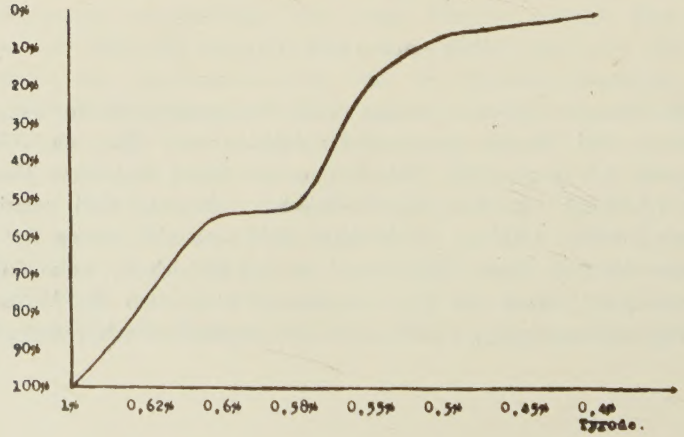
Zusammenfassung.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß Pentosenucleotid in Form des Nucleotrats. bei Mäusen intramuskulär injiziert, vor allem eine Gesamtleukozytose (+91%), eine Reticulozytose (+43%) und eine Thrombozytose (+28%) bewirkt; die myeloischen Elemente sind relativ am stärksten erhöht (+211%), doch findet sich auch ein Anstieg der Lymphozyten +63%). Nach Einwirkung von tyrosinreichem, leukotaktischem Pankreasextrakt stehen die Erythrozytose (+19%) und die Vermehrung der Polymorphkernigen (+129%) im Vordergrund. Nach intramuskulär,

in Form von Perandren und Oestradiol gegebenen Sexualhormonen, ist eine gegensätzliche Beeinflussung des weißen granulozytären und lymphozytären Blutbildes erkennbar. Die hauptsächlichen Veränderungen sind nach Einwirkung des Perandrens: eine Leukozytose (+68%) mit einer beträchtlichen absoluten Lymphozytose (+102%), keine Vermehrung der Polymorphkernigen (—8%), ein Ansteigen der Thrombozytenzahlen)+43%) und eine starke Reticulozytose (+97%). Die hauptsächlichen Einwirkungen des Oestradiols sind: eine Leukozytose (+47%) mit einer Vermehrung der Segmentkernigen (+125%), jedoch mit einer Abnahme der Stabkernigen (—5%). Lymphozytose (+35%), Reticulozytose (+6%) und Thrombozytose (+11%) sind nur gering.

ERYTHROZYTENRESISTENZ GEGEN NaCl-LÖSUNG.

ERYTHROZYTENRESISTENZ GEGEN TYRODE-LÖSUNG.



Schrifttum.

Arnold, Holtz und Marx: Die Naturwissenschaften, 24. Jahrg. 1936, S. 314.

Ammon und Dirscherl: Fermente, Hormone, Vitamine, 1938, S. 214, 249 ff. Verl. Georg Thieme, Leipzig.

v. Balo und Purjesz: Klinische Wochenschrift, 16. Jahrg. II. Halbj.

Bock H. E.: Fortschritte der Therapie. 13. Jahrg., 1937, Heft 10.

Druckrey: Kongreß-Zentralblatt f. d. gesamte Innere Medizin, Band 71, S. 533, 1933.

Favilli: Kongreß-Zentralblatt f. d. gesamte Innere Medizin, Band 77, S. 174, 1934.

Kamenoff: Proceedings of The Society for experimental Biology and Medicine, Band 36, S. 411—414, 1937.

Klieneberger: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. Verl. J. A. Barth, Leipzig, 1927.

Lehnartz: Chemische Physiologie. Verl. Springer, Berlin, 1937.

Minakuchi: Kongreß-Zentralblatt f. d. gesamte Innere Medizin, Band 68, S. 736, 1933.

Morimoto: Kongreß-Zentralblatt f. d. gesamte Innere Medizin, Band 85, S. 546, 1936 u. Band 88, S. 631, 1937.

Murao: Kongreß-Zentralblatt f. d. gesamte Innere Medizin, Band 61, S. 831, 1931.

Nicolle: Kongreß-Zentralblatt f. d. gesamte Innere Medizin, Band 90, S. 456, 1937.

Reznikoff, Jackson, Parker, Rinehart, Taylor: Zitiert nach Bockh. E.

Szekessy: Hoppe-Seylers Zeitschrift für Physiologische Chemie, Band 250, S. 175 ff., 1937.

Lebenslauf.

Ich, Günter Wolf, wurde am 1. September 1911 als Sohn des Handelslehrers Carl Wolf und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Harr, in Siegen/Westfalen geboren. Nach Besuch der Städtischen Volksschule zu Siegen von Ostern 1918 bis Ostern 1922 trat ich in die Sexta des dortigen Reform-Realgymnasiums ein. Wegen wirtschaftlicher Notlage meiner Eltern mußte ich Sommer 1931 die Anstalt verlassen und unterstützte meinen Vater in seiner beruflichen Tätigkeit. Von Herbst 1931 bis Frühjahr 1932 nahm ich teil an einem Winterkursus der Landwirtschaftlichen Schule zu Siegen. Herbst 1932 gestatteten mir die wirtschaftlichen Verhältnisse, wieder in die Unterprima des Reform-Realgymnasiums einzutreten, und ich legte dort am 15. Februar 1934 meine Reifeprüfung ab. Bis zu meinem Eintritt in den Reichsarbeitsdienst am 15. September 1934 war ich kaufmännisch tätig. Anschließend an meine Arbeitsdienstzeit begann ich im Wintersemester 1934/35 mein Medizinstudium an der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster/Westfalen. Mein drittes vorklinisches Semester absolvierte ich an der Universität Tübingen. Im Sommersemester 1936 und im Wintersemester 1936/37 studierte ich wiederum an der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster, wo ich am 18. Februar 1937 meine ärztliche Vorprüfung ablegte. Mein klinisches Studium begann ich an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Wintersemester 1938/39 wechselte ich die Universität, um an der Universität Tübingen mein Studium fortzusetzen. Ich stehe im 10. Semester meines medizinischen Studiums und beabsichtige bis Ende 1939 mein medizinisches Staatsexamen abzulegen.

Tübingen, April 1939.